



# ヒト化NOGマウス内に出現したヒトB細胞の分化,機能解析

著者	渡邊 庸平
号	78
学位授与番号	2707
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/45933">http://hdl.handle.net/10097/45933</a>

氏 名 (本籍) 渡 邊 庸 平

学位の種類 博士（医学）

学位記番号 医博第 2707 号

学位授与年月日 平成 21 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻                  東北大学大学院医学系研究科  
  (博士課程) 医科学専攻

学位論文題目 ヒト化 NOG マウス内に出現したヒト B 細胞の分化、機能解析

(主 查)

論文審査委員 教授 土屋 滋 教授 菅村 和夫

教授 張 替 秀 郎      教授 佐 竹 正 延

## 論 文 内 容 要 旨

近年、増加する免疫関連疾患（自己免疫病あるいはアレルギー疾患など）やヒト固有の感染症への社会的対応が急務となり、その疾患病態の解明や、治療・ワクチン開発へとつながるような実験系確立の必要性が指摘されている。

ヒト化マウスは、マウスという汎用可能な実験動物の中で、じかにヒト免疫系の解析が可能となる有用なモデルマウスになり得ることから、近年その開発、研究が進んでいる。

本研究では、臍帯血由来ヒト  $CD34^+$  血液幹細胞を新規超免疫不全 NOD/Shi-SCID/ $\gamma c^{null}$  (NOG) マウスに移植することによりヒト化マウスを作製し、マウス体内に発生したヒト B 細胞の分化、機能解析を行った。ヒト化 NOG マウス血清中には、ヒト IgM は検出されるものの、ヒト IgG は殆ど検出できなかった。またタンパク抗原による免疫に対して抗原特異的ヒト IgM の産生は検出されたが、IgG は検出できなかった。ヒト化 NOG マウス内の IgD 陽性ヒト B 細胞の機能を試験管内培養により解析したところ、サイトカイン存在下で抗原刺激に対して、クラススイッチ応答を示し IgG を産生し得ることから機能的に成熟した B 細胞であることが示唆された。他方、詳細な B 細胞の表面抗原解析により、ヒト化 NOG マウスの脾臓には  $CD19^+ IgM^- IgD^-$  B 前駆細胞と、 $CD19^+ IgM^+ CD21^{lo} IgD^{lo} CD24^{hi} CD38^{hi} CD10^{hi}$  未熟 B 細胞が多数蓄積していることが明らかになった。このことからヒト B 細胞の不完全な分化がヒト化 NOG マウスの IgG 産生能欠如の一因になる可能性が考えられた。そこでヒト化 NOG マウス内のヒト B 細胞分化を促進する目的で、BAFF および bcl-2 遺伝子を  $CD34^+$  細胞に予めレトロウイルスにより導入し、ヒト化マウスを作製した。bcl-2 の遺伝子導入において、B 細胞数の増加を認めたが、有意な成熟 B 細胞への分化促進や、IgG 産生増加は認めなかった。以上から、ヒト化 NOG マウスの骨髓、脾臓微少環境には機能的な成熟 B 細胞を分化誘導する能力がある一方、全てのヒト B 細胞の分化を支持するには不十分であり、B 前駆細胞の末梢への流出や未熟な B 細胞の蓄積を来していることが示唆された。

## 審査結果の要旨

ヒト化マウスは、マウスという汎用可能な実験動物の中で、ヒト免疫系の解析が可能となる有用なモデルマウスになり得ることから、近年その開発、研究が進んでいる。しかし、実際にどこまで生着したヒト血液系細胞が機能するかについての知見は乏しい。

本研究は、臍帯血由来ヒト CD34<sup>+</sup> 血液幹細胞を新規超免疫不全 NOD/Shi-SCID/ $\gamma_c^{nu11}$  (NOG) マウスに移植することによりヒト化マウスを作製し、マウス体内に発生したヒト B 細胞の分化、機能を中心に解析することを目的とした。

結果は以下の通りである。

(1) ヒト化 NOG マウス血清中には、ヒト IgM は検出されるものの、ヒト IgG は殆ど検出できなかった。

(2) タンパク抗原による免疫に対して抗原特異的ヒト IgM の産生は検出されたが、IgG は検出できなかった。

(3) ヒト化 NOG マウス内の IgD 陽性ヒト B 細胞の機能を試験管内培養により解析したところ、サイトカイン存在下で抗原刺激に対して、クラススイッチ応答を示し IgG を産生し得ることから機能的に成熟した B 細胞であることが示唆された。

(4) 詳細な B 細胞の表面抗原解析により、ヒト化 NOG マウスの脾臓には CD19<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup> IgD<sup>-</sup> B 前駆細胞と、CD19<sup>+</sup> IgM<sup>+</sup> CD21<sup>lo</sup> IgD<sup>lo</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> CD10<sup>hi</sup> 未熟 B 細胞が多数蓄積していることが明らかになった。

(5) ヒト B 細胞の不完全な分化がヒト化 NOG マウスの IgG 産生能欠如の一因になる可能性が考えられたため、ヒト化 NOG マウス内のヒト B 細胞分化を促進する目的で、BAFF および bcl-2 遺伝子を CD34<sup>+</sup> 細胞に予めレトロウイルスにより導入し、ヒト化マウスを作製した。bcl-2 の遺伝子導入において、B 細胞数の増加を認めたが、有意な成熟 B 細胞への分化促進や、IgG 産生増加は認めなかった。

これらのことから、ヒト化 NOG マウスの骨髓、脾臓微少環境には機能的な成熟 B 細胞を分化誘導する能力がある一方、全てのヒト B 細胞の分化を支持するには不十分であり、B 前駆細胞の末梢への流出や未熟な B 細胞の蓄積を来していることが示唆された。ヒト化 NOG マウスの免疫機能を詳細に調べた報告はなく、今後のヒト化 NOG マウスの応用を考える上で、貴重な知見が得られた。学位にふさわしい研究と考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

